

金耳孢子和毛韧革菌不同接种方法栽培金耳试验

王能爽¹, 马庆芳¹, 张丕奇¹, 马世玉², 马银鹏¹

(1. 黑龙江省科学院微生物研究所 哈尔滨 150010; 2. 黑龙江黑臻生物科技有限公司 黑龙江绥化 152300)

摘要:为了筛选出一种金耳孢子和毛韧革菌栽培金耳的最优接种方法,选择8种不同的金耳孢子和毛韧革菌的接种方法进行栽培出耳试验,初步得到出耳早且金耳子实体品质较好的方法,然后将该方法中的金耳孢子接种量和两菌接种间隔天数这两个条件设置为变量进行对照试验,通过比较菌丝生长速率、满瓶时间、出原基时间、子实体性状和生物学效率等指标,最终得到出耳早且子实体性状优良的接种方法。结果表明,方法A即先接种1块毛韧革菌菌丝块(直径6 mm)、8 d后再接种1 mL金耳孢子液(浓度 1×10^4 mL⁻¹)菌丝长势最好,金耳出原基最早。对方法A进行进一步优化,得出最佳接种方法A5(先接种1块毛韧革菌、8 d后再接种0.5 mL金耳孢子液),其菌丝长势最好,金耳出原基早(30 d),生物学效率最高(48.4%)。本试验结果为金耳孢子悬浮液和毛韧革菌菌丝体混合接种栽培金耳提供技术支持。

关键词:金耳;孢子;毛韧革菌;接种方法;农艺性状

中图分类号:S646.6

文献标志码:A

文章编号:1673-2871(2025)12-141-06

Experiment of the cultivation of *Naematelia aurantialba* by different inoculation methods of Jiner spores and *Stereum hirsutum* agar disks

WANG Nengshuang¹, MA Qingfang¹, ZHANG Piqi¹, MA Shiyu², MA Yinpeng¹

(1. Institute of Microbiology, Heilongjiang Academy of Sciences, Harbin 150010, Heilongjiang, China; 2. Heilongjiang Heizhen Biotechnology Co., Ltd., Suihua 152300, Heilongjiang, China)

Abstract: To identify the optimal inoculation method for cultivating *Naematelia aurantialba* using Jiner spores and *Stereum hirsutum*, eight different inoculation strategies involving Jiner spores and *S. hirsutum* were tested. Initially, the method that resulted in the earliest fruiting and better quality of *N. aurantialba* fruiting bodies was identified. Subsequently, a controlled experiment was conducted by setting two conditions in this method—inoculum volume of Jiner spores and interval days between the inoculation of the two fungi—as variables. By comparing indicators including mycelial growth rate, time to full bottle colonization, time to primordia formation, fruiting body traits, and biological efficiency, the inoculation method that resulted in the earliest fruiting and superior fruiting body traits was ultimately determined. The results showed that method A—first inoculating one block of *S. hirsutum* (6 mm in diameter), followed 8 days later by 1 mL of Jiner spore suspension (1×10^4 mL⁻¹)—resulted in the best mycelial growth and the earliest primordium formation. Further optimization of method A revealed that the optimal inoculation method A5—first inoculating one block of *S. hirsutum*, followed 8 days later by 0.5 mL of Jiner spore suspension—achieved the best mycelial growth, early primordium formation (30 days), and the highest biological efficiency (48.4%). The results of this study provides technical support for mixed inoculation of Jiner spore suspensions and *S. hirsutum* cultures in the cultivation of *N. aurantialba*.

Key words: *Naematelia aurantialba*; Spore; *Stereum hirsutum*; Inoculation method; Agronomic character

金耳(*Naematelia aurantialba*)是一种珍稀食用菌,因其颜色金黄、形似人脑而得名,又称黄金耳、黄耳或脑耳等^[1-2]。金耳隶属于担子菌门(Basidiomycota)担子菌纲(Basidiomycetes)银耳目(Tre-

mellales)耳包革科(Naemateliaceae)耳包革属(*Naematelia* Fr.)^[3]。金耳口感清甜细腻,营养丰富,富含蛋白质、多糖、维生素和矿物质,具有较高的食用和药用价值^[4-5]。传统中医认为,金耳具有润肺、养胃、

收稿日期:2025-07-03;修回日期:2025-09-15

基金项目:黑龙江省重点研发计划(2022ZX02B08)

作者简介:王能爽,女,在读硕士研究生,主要从事食用菌菌种选育研究。E-mail: wangnengshuang222@163.com

通信作者:马银鹏,男,副研究员,主要从事黑木耳生物活性物质研究。E-mail: myp19870315@163.com

滋阴等功效,常用于滋补养颜、增强免疫力,备受消费者欢迎,具有较大的市场潜力。金耳主要生长在温带和亚热带地区的阔叶林中,通常寄生在朽木或枯枝上。金耳在我国主要分布在云南、四川、湖北、江西和西藏等地^[6-7]。

金耳是一种二型态真菌,可分为酵母型和菌丝型。金耳属于典型的四极性异宗结合真菌,以酵母型状态生长,酵母状芽孢通过芽殖方式繁殖^[8-9],难以萌发菌丝,仅在特定情况下方可萌发成菌丝^[10]。次生菌丝或酵母状孢子与特定生物因子——毛韧革菌(*Stereum hirsutum*)共栽培才能生长发育出金耳子实体^[11]。自20世纪80年代起,人类实现了金耳的人工驯化,并成功构建了代料栽培技术体系^[12-14]。经多年研究和技术优化,其栽培技术持续发展,已形成多种制种方法。目前,金耳栽培的方法主要有固体菌种法^[15-16]、液体菌种法^[17-18]和金耳孢子与毛韧革菌混合栽培法^[19]。当前,金耳栽培方法中固体菌种法与液体菌种法的技术体系已较为成熟,然而针对金耳孢子及毛韧革菌接种方法^[19-21]的实际应用优化研究,仍存在系统性验证不足的问题,有关操作规范及效果评估等关键环节亟待探究与完善。本研究旨在通过设计金耳孢子和毛韧革菌的不同接种方法(混合接种、顺序接种、不同接种量接种)进行栽培试验,筛选出能够出金耳的栽培方法,进一步优化后获得金耳孢子和毛韧革菌栽培出金耳的最优方法,以期为金耳栽培提供新的思路和技术支持,助力金耳产业的高效化、标准化发展。

1 材料与方法

1.1 材料

试验于2024年11月至2025年4月在黑龙江省科学院微生物研究所进行。供试菌株为金耳1号,购买于云南菌视界生物科技有限公司,保藏于黑龙江省科学院微生物研究所。

PDA培养基:马铃薯200 g,葡萄糖20 g,琼脂25 g,无菌水定容至1000 mL,自然pH。PD培养基:马铃薯200 g,蔗糖20 g,硫酸镁3 g,磷酸二氢钾4 g,无菌水定容至1000 mL,自然pH。PDA和PD培养基均采用121℃灭菌30 min。栽培基质配方:木屑56.8%,麦麸15%,棉籽壳25%,蔗糖3%,硫酸镁0.1%,硫酸二氢钾0.1%,含水量62%。将木屑和棉籽壳提前1 d浸水处理,每440 mL组培瓶装入200 g基质,121℃灭菌2 h^[18]。

1.2 方法

1.2.1 金耳孢子和毛韧革菌制备 取金耳1号成熟子实体,由外向内切取大小为2.5 cm³的组织块,悬挂弹射制备金耳孢子,将酵母状孢子菌落挑取至PDA培养基上培养,获得金耳孢子,编号YJ-1,参考沈真辉^[22]的方法鉴定YJ-1为双核体。

取金耳1号成熟子实体,由内向外切取大小为1 cm³组织块,接种于PDA培养基上培养72 h,尖端纯化7次得到毛韧革菌菌株^[23],编号SH-1。

1.2.2 菌种活化 平板培养:将YJ-1和SH-1转接到PDA培养基上,22℃活化7 d,分别获得金耳孢子和毛韧革菌固体菌种。发酵培养:将活化的YJ-1和SH-1分别接入装有100 mL PD培养基的250 mL三角瓶中,在22℃、150 r·min⁻¹条件下振荡培养10 d(孢子液浓度约为1×10⁴个·mL⁻¹),分别获得金耳孢子和毛韧革菌液体菌种。

1.2.3 接种方法比较 基于前人的研究结果,采用毛韧革菌和金耳孢子^[21]、毛韧革菌菌块和金耳孢子液体菌种^[19]、毛韧革菌液体菌种和金耳孢子液体菌种^[20]设计8种接种方法进行栽培金耳试验。将毛韧革菌SH-1和金耳孢子YJ-1平板用6 mm打孔器打孔。按照表1试验设计,每种方法3个重复,接种后置于22℃恒温培养箱中避光培养。此期间组培瓶定期划线,记录不同时间点的生长长度,计算菌丝长速;观察菌丝浓密程度、颜色,获得不同接种方法的菌丝长势;记录从接种开始,到菌丝完全覆盖培养基表面及内部(达到培养容器顶部或填满培养空间)所需的时间,即满瓶时间;在菌丝长满瓶(或接近满瓶)时,当观察培养料表面出现小凸起时,记录该时间为出原基时间。出耳期管理参考李宾等^[14]的方法。

1.2.4 接种方法优化 根据8种接种方法的试验结果,发现方法A出金耳时间最早、子实体性状好、直径最大。因此,对方法1进行接种方法的优化。通过改变金耳孢子接种量和接种间隔时间进行优化,以期获得最优的栽培出金耳的方法。栽培方法优化试验设计如表2所示,每种方法设4个重复,接种后置于22℃恒温培养箱中避光培养,测定方法同1.2.3,并进行生物学效率测定。

生物学效率/%=子实体鲜质量(g)/培养料干质量(g)×100。

1.3 数据统计与分析

采用Excel 2021和SPSS 27分析软件对采集的数据进行统计分析,数据以均值±标准差表示,采用 t 检验分析各组间差异显著性。

表 1 不同接种方法试验设计

Table 1 Experimental design of different cultivation methods

接种方法 Vaccination method	毛韧革菌接种量 <i>Stereum hirsutum</i> inoculum amount	金耳孢子接种量 Jiner spores inoculum amount	混合时间 Mixed time/d	接种间隔时间 Vaccination Interval time/d
A	1 块 One block	1 mL	0	8
B	2 块 Two blocks	8 块 Eight blocks	0	0
C	4 块 Four blocks	6 块 Six blocks	0	0
D	5 块 Five blocks	5 块 Five blocks	0	0
E	7 mL	3 mL	3(a)	0
F	2.5 mL	2.5 mL	3(b)	0
G	4 mL	4 mL	10(a)	0
H	4 mL	6 mL	3(a)	0

注:a. 在 22 ℃、150 r·min⁻¹ 条件下振荡培养;b. 22 ℃静置培养。
Note: a. 22 ℃, 150 r·min⁻¹ shaking culture; b. 22 ℃ static culture.

表 2 接种方法优化试验设计

Table 2 Experimental design for optimizing the best cultivation method

接种方法 Vaccination method	毛韧革菌接种量 <i>Stereum hirsutum</i> inoculum amount/block	金耳孢子接种量 Jiner spores inoculum amount/mL	接种间隔时间 Vaccination Interval time/d
A1	1	1.0	4
A2	1	1.0	8
A3	1	1.0	12
A4	1	0.5	4
A5	1	0.5	8
A6	1	0.5	12
A7	1	2.0	4
A8	1	2.0	8
A9	1	2.0	12

2 结果与分析

2.1 不同接种方法比较

由表 3 可知,8 种接种方法的菌丝长势、满瓶时间和出原基时间存在差异。根据菌丝长势和满瓶时间可知,方法 A 的菌丝长速最快,为 3.3 mm·d⁻¹,菌丝洁白、粗壮,满瓶时间最短,为 15.5 d;方法 B 和方法 C 的菌丝长势较快,菌丝致密,满瓶时间较方法 A 晚 5 d 左右;方法 G 的菌丝长速慢,菌丝较弱,满瓶时间较长;其他 4 种方法的菌丝特别稀疏,满瓶时间没有统计。根据出原基时间可知,方法 A 出原基最快,为 30 d,方法 B 和方法 C 出原基时间较方法 A 晚 5.5 d,方法 G 出原基时间较长,为 60.5 d,其他 4 种方法均未出原基。

由图 1 可知,方法 A 栽培的金耳胶质细腻、朵

表 3 不同接种方法下的培养结果

Table 3 Results of cultivation under different inoculation methods

方法 Method	菌丝长势 Mycelium growth	菌丝长速 Mycelium growth rate/(mm·d ⁻¹)	满瓶时间 Full bottle time/d	出原基时间 Time of primordium emergence/d
A	+++	3.3±0.12 a	15.5±0.9 a	30.0±0.0 c
B	++	2.8±0.04 b	20.0±0.9 b	35.5±0.7 b
C	++	2.9±0.04 c	20.5±0.9 b	35.5±0.7 b
D		-	-	-
E		-	-	-
F		-	-	-
G	+	0.6±0.06 d	50.0±0.8 c	60.5±0.7 a
H		-	-	-

注:+++、++、+分别表示菌丝浓密、密、较稀。-表示无结果。同列不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。下同。

Note: +++, ++, + indicates that dense mycelium, dense, and relatively sparse, respectively. - indicates no result. Different small letters in the same column indicate significant difference at 0.05 level. The same below.

型大、饱满无裂痕、无黄水;方法 B、方法 C 栽培的金耳子实体有裂开、出黄水的现象,色泽差;方法 G 栽培的金耳胶质细腻。综上所述,方法 A 为最佳接种方法,具有菌丝满瓶快、出耳快、子实体性状优良的特点。

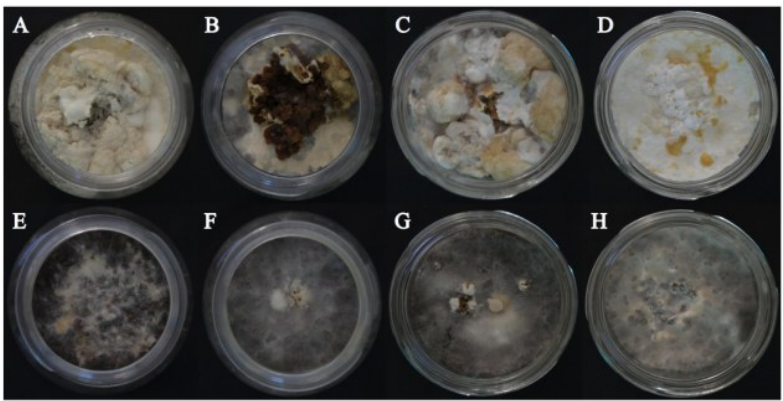


图 1 不同接种方法下的金耳原基生长情况

Fig. 1 The primordia growth status of *Naematelia aurantialba* under different inoculation methods

2.2 接种方法优化

由表 4 和图 2 可知,9 种优化接种方法的菌丝长势、满瓶时间、出原基时间、生物学效率及金耳子实体性状存在差异。方法 A5 和方法 A6 的菌丝长速较快,分别为 2.50 和 2.49 mm·d⁻¹,满瓶时间最短,均为 14.3 d;方法 A2、A8、A9 的菌丝长速稍慢,满瓶时间较短;方法 A1、A3、A4、A7 的菌丝长速慢、满瓶时间长。方法 A5 和方法 A6 的菌丝洁白、浓密,其余方法的菌丝都较密。根据出原基时间可

知,方法 A2、A4、A5 出原基时间较快,为 30~31 d,其中方法 A5 出原基时间最短,方法 A3、A6、A8、A9 出原基时间稍长,为 40 d 左右。根据子实体直径可知,方法 A8 得到的金耳子实体最大,为 7.11 cm,方法 A5、A9 的子实体稍小于方法 A8,但均超过 7 cm。方法 A7 未出耳。根据生物学效率可知,方法 A5 的生物学效率最高,为 48.4%。

由图 3 可知,不同接种方法的金耳子实体品质及色泽存在差异。方法 A2、A5、A8 的子实体肉厚、

表 4 接种方式优化培养结果
Table 4 The optimized results of inoculation methods

方法 Method	菌丝长势 Mycelium growth	菌丝长速 Mycelium growth rate/(mm·d ⁻¹)	满瓶时间 Full bottle time/d	出原基时间 Time of primordium emergence/d	子实体直径 Sporocarp diameter/cm	生物学效率 Biological efficiency/%
A1	++	2.17±0.12 d	19.5±0.58 a	44.0±0.58 a	0.99±0.16 f	18.8±0.08 e
A2	++	2.27±0.06 bc	16.5±0.58 c	31.0±0.00 d	5.82±0.23 d	35.9±1.42 d
A3	++	2.16±0.03 d	18.5±1.00 b	41.3±0.50 b	6.85±0.15 b	45.4±1.00 c
A4	++	2.21±0.07 cd	18.3±0.96 b	30.5±0.58 de	3.08±0.04 e	6.1±0.52 e
A5	+++	2.50±0.07 a	14.3±0.50 d	30.0±0.00 e	7.04±0.13 ab	48.4±1.91 a
A6	+++	2.49±0.05 a	14.3±0.50 d	41.3±0.50 b	6.39±0.05 c	46.4±1.98 bc
A7	++	2.18±0.08 cd	18.5±0.58 b	0	0	
A8	++	2.34±0.04 b	14.8±0.50 d	38.8±0.50 c	7.11±0.29 a	47.2±1.05 ab
A9	++	2.29±0.04 bc	15.8±0.50 c	40.8±0.50 b	7.03±0.14 ab	47.6±1.30 ab

饱满、朵型大、呈脑状、色泽好;方法 A3、A6、A9 的子实体虽朵型较大,但形状较不规则并且有开裂现象;方法 A1、A4 的子实体体积较小且开裂。综上所述,方法 A5 为最佳的接种方法,具有出耳早、子实体大且品质好的优点。

3 讨论与结论

金耳菌与毛韧革菌是伴生关系,金耳依赖毛韧革菌的菌丝体获取营养,这导致其人工接种面临多

重困难。首先,双菌协同培养难度高,金耳菌丝生长缓慢且对营养和环境条件敏感,需与毛韧革菌严格匹配生长阶段,过早接种金耳生长会被抑制,过晚则毛韧革菌的代谢产物可能阻碍金耳定殖,降低接种成功率^[24]。其次,毛韧革菌作为典型的木腐菌,其菌丝体定殖过程释放的木质纤维素降解酶可能抑制金耳菌丝扩展^[25]。最后,规模化生产稳定性差,自然条件下两菌共生依赖微生态平衡,而人工栽培时基质成分、环境条件的细微偏差均可能导致伴生

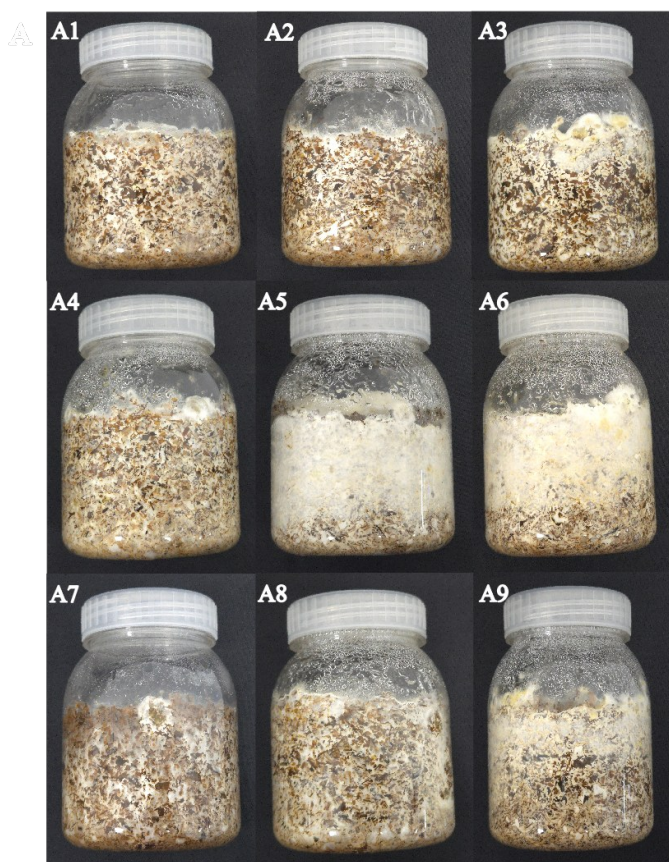


图2 优化接种方法下的金耳菌丝生长情况
Fig. 2 The mycelial growth status of *Naematelia aurantialba* under different inoculation methods

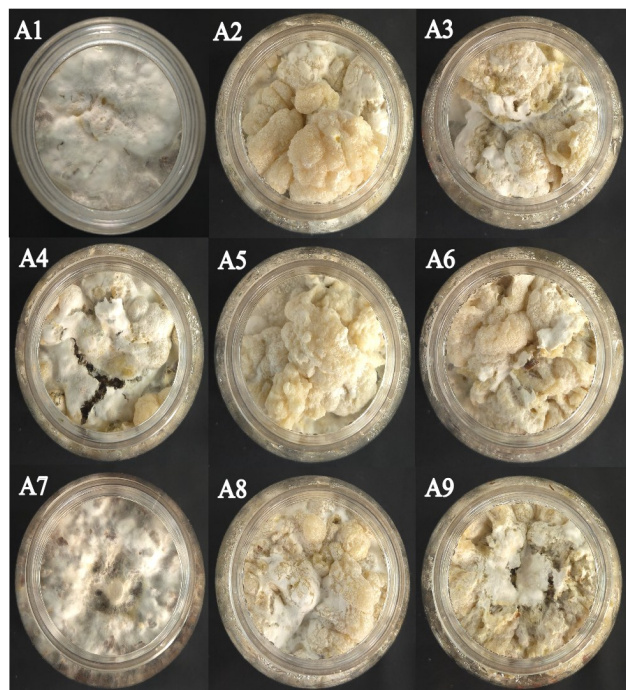


图3 优化接种方法下的金耳子实体生长情况
Fig. 3 The fruiting bodies growth status of *Naematelia aurantialba* under different inoculation methods

失败。这些因素使得金耳接种成为需高精度工艺调控的技术难题。因此,笔者开展金耳孢子和毛韧革菌接种方法的研究,以期在金耳高效栽培提供技术支持。

笔者设置多种金耳孢子和毛韧革菌的接种方法进行栽培出耳试验,最终得到最佳接种方法A5:先接种1块毛韧革菌、8 d后再次接种0.5 mL金耳孢子液;出耳时间最早为30 d,生物学效率最高,为48.4%,与李荣春等^[19]的报道一致,原因可能是先接种毛韧革菌为金耳孢子提供适宜的生长环境或营养基础,数天后接种适量金耳孢子液能避免金耳孢子与毛韧革菌初期生长阶段的营养竞争,使孢子萌发期恰好对应基质营养峰值期,加速出耳进程;此外,毛韧革菌菌丝会在基质中形成保护屏障,可降低染菌风险,为金耳生长提供优良环境。接种方法F:金耳孢子液与毛韧革菌发酵液等体积混合置于室温下3 d,结果未出耳,这与杨学英^[20]的报道不一致,可能是混合后未给予足够的萌发时间(3 d过短);方法E、G、H:将金耳孢子及毛韧革菌混合在一起发酵3 d,只有方法G(等体积的毛韧革菌和金耳孢子接种量)成功出耳,但存在出耳较晚、朵型较小的缺点,与武倩^[21]的研究结果一致。

金耳的人工栽培仍存在出耳率不稳定、品质差异大等问题。毛韧革菌作为金耳的伴生菌,对金耳菌丝生长及子实体形成具有关键作用。笔者通过比较不同金耳孢子和毛韧革菌的接种方式对金耳菌丝定殖、子实体发育的影响,旨在优化金耳栽培工艺,缩短出耳时间和改善商品性状。研究结果可为金耳规模化栽培、实验室研究提供科学依据,同时有助于解析金耳与毛韧革菌的互作机制,为其他共生型食用菌的驯化栽培提供参考。该研究对促进珍稀食用菌产业发展、提高经济效益具有重要的实践价值。

综上所述,通过筛选优化得到的最佳接种方法A5,即先接种1块毛韧革菌、8 d后再次接种0.5 mL金耳孢子液,具有出耳早、子实体朵大饱满、生物学效率高的特点。本研究结果为生产和试验研究提供可复制的技术模板,降低因接种时机或配比不当导致的减产风险,助力金耳产业的健康发展。

参考文献

- [1] 何容,罗晓莉,李建英,等.金耳研究现状与展望[J].食药菌,2019,27(1):41-47.
- [2] 刘书畅,马布平,罗祥英,等.金耳研究进展综述[J].食药菌,2017,25(6):359-362.

- [3] 李雪松,孙达锋,刘绍雄,等.金耳酵母状孢子的转录组测序及分析[J].中国食用菌,2025,44(2):84-89.
- [4] YAN Y H, WANG M T, CHEN N, et al. Isolation, structures, bioactivities, application and future prospective for polysaccharides from *Tremella aurantialba*: A review[J]. Frontiers in Immunology, 2022, 13. 1091210.
- [5] 张怡敏,李颜秘,任潇,等.金耳多糖的营养价值及开发利用现状[J].食品研究与开发,2024,45(19):219-224.
- [6] 唐松明,何俊,张小雷,等.金耳栽培技术研究进展[J].中国食用菌,2018,37(4):1-4.
- [7] 岳万松,李雪松,刘绍雄,等.金耳栽培常见问题及对策探讨[J].中国食用菌,2022,41(8):80-85.
- [8] 曹瑶,沈真辉,杨林雷,等.采用单孢杂交技术判定金耳极性[J].食用菌学报,2024,31(1):38-44.
- [9] 王能爽,田爽,马庆芳,等.金耳生物学特性、栽培技术和多糖功效的研究进展[J].中国瓜菜,2025,38(5):14-19.
- [10] 杨林雷,曹瑶,李荣春.一种诱导金耳菌芽孢萌发菌丝的培养基及制备、培养方法:CN202210537560.5[P].2022-06-17.
- [11] 叶彬.金耳菌种的分子鉴定及出菇实验[D].福州:福建农林大学,2012.
- [12] 郑淑芳,刘平.金耳人工栽培研究初报[J].食用菌科技,1983(1):15-16.
- [13] 刘正南,郑淑芳,张洪,等.金耳代料栽培及转色机制[J].食用菌,1990(1):24-25.
- [14] 李宾,田芳,金丽,等.金耳代料栽培的基质配方优化[J].中国瓜菜,2025,38(3):114-118.
- [15] 李建英,罗孝坤,刘春丽,等.金耳有效原种的配方和品种筛选[J].生物灾害科学,2020,43(1):96-99.
- [16] 钟冬季,钟秀媚.金耳栽培技术[J].食用菌,2008(4):50-51.
- [17] 刘从甫.金耳液体菌种袋料栽培技术[J].农村新技术,2024(11):21-22.
- [18] 金丽,李宾,田芳.金耳液体菌种制备及袋料高效栽培技术[J].乡村科技,2024,15(9):69-71.
- [19] 李荣春,杨林雷.一种通过金耳无性芽孢与毛韧革菌组合选育金耳新品种的方法:CN202010944833.9[P].2020-12-04.
- [20] 杨学英.金耳液体制种及袋料栽培技术研究[D].陕西汉中:陕西理工大学,2021.
- [21] 武倩.金耳有效菌种鉴定及制备技术研究[D].河北保定:河北农业大学,2024.
- [22] 沈真辉,李荣春,曹瑶,等.用于鉴定金耳单核体交配型的引物组合及鉴定方法:CN202310410540.6[P].2023-05-23.
- [23] 田果廷,陈卫民,苏开美,等.金耳代料栽培技术研究[J].食用菌学报,2012,19(1):43-46.
- [24] 刘书畅,李荣春,马布平,等.金耳菌种生产技术研究[J].中国食用菌,2019,38(9):94-99.
- [25] 华志斌.金耳菌渣修复镉污染的效率与机制及金耳在毛韧革菌生长和镉耐受性的贡献研究[D].昆明:云南大学,2024.